

马子茹,余学庆,闫若男,等. 基于组织特异性缺氧损伤探讨体外模型的构建与优化 [J]. 中国比较医学杂志, 2026, 36 (2): 92-104.

Ma ZR, Yu XQ, Yan RN, et al. Construction and optimization of an *in vitro* model based on tissue-specific hypoxic injury [J]. Chin J Comp Med, 2026, 36(2): 92-104.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2026.02.010

基于组织特异性缺氧损伤探讨体外模型的构建与优化

马子茹^{1,2}, 余学庆^{1,3}, 闫若男^{1,2}, 唐会猛^{1,2}, 胡海洋^{1,2}, 赵文涵^{1,2}, 杨曙光^{1*}

(1.河南中医药大学第一附属医院呼吸科,郑州 450000;2.河南中医药大学第一临床医学院,郑州 450046;
3.河南中医药大学呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心,河南省中医药防治呼吸病重点实验室,郑州 450046)

【摘要】 缺氧是多种慢性呼吸疾病、心血管疾病、脑缺血和实体肿瘤等重大疾病的重要发病环节,而细胞缺氧模型作为解析缺氧应答机制、筛选潜在治疗靶点的重要工具,其构建的科学性与适用性直接影响研究结论的可靠性,对开展相关疾病防治研究具有重要意义。目前,细胞缺氧模型的构建与应用研究已取得了阶段性成果,但在模型评价体系和组织细胞特异性方面仍具有一定的局限性。本文总结缺氧发生发展机制及指标评价研究现状,结合组织特异性特点,探讨细胞缺氧模型的构建与优化,为模型构建提供参考,助力靶向治疗的研究与转化。

【关键词】 细胞缺氧模型;缺氧机制;组织特异性;模型构建与优化

【中图分类号】 R364.4; R329.2; R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2026) 02-0092-13

Construction and optimization of an *in vitro* model based on tissue-specific hypoxic injury

MA Ziru^{1,2}, YU Xueqing^{1,3}, YAN Ruonan^{1,2}, TANG Huimeng^{1,2}, HU Haiyang^{1,2}, ZHAO Wenhan^{1,2}, YANG Shuguang^{1*}

(1. Respiratory Department of the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China.
2. the First Clinical Medical College of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046. 3. Collaborative Innovation Center for Chinese Medicine and Respiratory Diseases Co-Constructed by Henan Province & Ministry of Education of P. R. China, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046)

【Abstract】 Hypoxia is an important part of the pathogenesis of many chronic respiratory and cardiovascular diseases, cerebral ischemia, and solid tumors, and other major diseases. Cell hypoxia models provide an important tool for analyzing the mechanism of hypoxia responses and for screening potential therapeutic targets. The scientific aspects and applicability of model construction, however, can directly affect the reliability of the research conclusion, and are thus of great significance to the development of related disease prevention and treatment research. Research on

【基金项目】 国家自然科学基金 (82305138); 河南省自然科学基金 (232300420276); 河南省中医药科学研究专项课题 (2022JDZX118)。

【作者简介】 马子茹(2000—),女,在读硕士研究生,研究方向:中医药防治呼吸系统疾病。E-mail:18903821021@163.com

【通信作者】 杨曙光(1988—),男,副主任医师,研究方向:中医药防治呼吸系统疾病。E-mail:ysg0530_0512@126.com

the construction and application of cell hypoxia models has currently achieved stage-by-stage result, but there are still some limitations in terms of the model-evaluation system and tissue cell specificity. This paper summarizes the current status of research on the mechanism of hypoxia occurrence and development and the evaluation of indicators. We combine the tissue-specific characteristics, and discuss the construction and optimization of the cellular hypoxia model to provide a reference for future model construction and to support future research, development, and translation of targeted therapies.

【Keywords】 cellular hypoxia model; hypoxia mechanism; tissue specificity; model construction and optimization

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

缺氧(hypoxia)是指组织器官供氧不足或氧利用障碍引发的病理过程,通过触发能量代谢紊乱、缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)信号通路异常激活及氧化应激(oxidative stress, OS)等分子级联反应^[1],驱动慢性呼吸系统疾病的气道重塑与炎症、心血管疾病的心肌细胞凋亡、脑缺血的神经营激性毒性损伤以及实体肿瘤的恶性增殖与耐药等多种重大疾病的病理进程^[2-5]。因此,解析缺氧的分子机制及其在疾病中的作用,建立高度可控且能模拟体内病理生理状态的缺氧研究模型成为解析分子机制与筛选治疗靶点的关键。动物模型虽可反映整体器官,但因个体差异大、分子通路操控精度不足及伦理成本限制,难以满足机制研究的可控性需求;而临床研究虽直接关联人类疾病,但受限于样本可及性和动态监测壁垒而难以开展。在此背景下,体外细胞缺氧模型凭借其环境参数精准可控、实验通量高、分子机制解析便捷等突出优势,自 20 世纪中叶以来逐步发展为该领域的核心研究工具。研究者已建立起物理调控(缺氧培养箱、缺氧小室和缺氧袋等)、化学诱导模拟(如氯化钴培养法、连二亚硫酸钠(sodium dithionite, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$)耗氧法等)和基因编辑等技术手段^[6]。

随着研究的深入,对细胞缺氧模型的优化需求逐步显现。现有方案多采用通用化构建逻辑,忽视了不同组织来源细胞对缺氧的差异性应答,如心肌细胞对缺氧的敏感性远高于成纤维细胞^[7],神经细胞在缺氧状态下更易发生兴奋性毒性损伤^[8]。这种生物学本质差异导致通用模型难以精确模拟特定疾病的缺氧病理表型,而评价体系维度不足进一步制约模型可靠性;当前对模型有效性的判断多依赖单一指标,如 HIF-1 α 的表

达水平,缺乏对细胞功能状态、代谢表型等多维度的综合评估,使得部分模型与体内真实缺氧微环境的关联性不足。基于上述问题,深入探讨组织特异性与细胞缺氧模型构建的内在联系,实现模型的精准优化已成为该研究领域的关键。本文总结细胞缺氧模型的常用构建方法与评价指标,以组织特异性为切入点,分析不同组织细胞对缺氧的特异性应答规律,提出基于组织特性的模型构建与优化,旨在为研究者提供更具针对性的模型选择依据。

1 细胞缺氧模型构建的基本模式

1.1 化学性缺氧模型

化学性缺氧模型是利用化学物质模拟生物体内缺氧状态。根据作用方式可分为两类:添加化学物质来消耗细胞培养基内氧气使细胞供氧不足,如 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 在水溶液中能迅速与氧气发生化学反应,大量消耗溶解氧,导致细胞周围氧含量急剧下降,来营造缺氧微环境^[9];另一类是将化学物质直接作用于细胞,干扰细胞对氧气的利用,如氯化钴(cobalt chloride, CoCl_2)能够竞争性的抑制脯氨酰羟化酶(prolyl hydroxylase, PHD)活性,使 HIF-1 α 无法被羟化而在细胞内稳定积累,从而激活下游一系列靶基因(如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)、葡萄糖转运蛋白 1(glucose transporter 1, GLUT1)等)的转录,来模拟细胞对缺氧的应答过程^[10]。此外,去铁胺(deferoxamine, DFO)与 CoCl_2 诱导细胞缺氧模型方式相似,通过螯合铁离子,使 PHD 活性被抑制,导致 HIF-1 α 无法被正常羟化而积累,进而激活相关基因的表达^[11]。而氰化钠(sodium cyanide, NaCN)则是通过解离氰离子(CN^-)对细胞线粒体

电子传递链复合体造成不可逆的抑制反应^[12]。

化学性缺氧模型的优势在于操作便携和高效,不需要特殊的低氧设备,在常规细胞培养条件下即可开展,可大幅降低实验成本。目前化学性缺氧模型应用广泛,但仍与生理性缺氧存在本质差异。化学物质在细胞内的代谢过程复杂,这种非生理性的干预可能引发细胞的异常应激反应、干扰细胞正常代谢或毒性作用等,限制了对缺氧病理机制的真实反映。

1.2 物理性缺氧模型

物理性缺氧是通过使用低氧设备精确调控培养环境中的气体成分,降低氧气浓度,高度还原细胞的缺氧环境,是研究细胞缺氧机制的重要工具。常用的低氧设备有低氧培养箱、缺氧小室以及厌氧袋/厌氧罐等^[13-15]。这些设备可以通过调节氧气、氮气、二氧化碳的比例或消耗单位空间的氧气来模拟生理病理缺氧状态,广泛应用于肿瘤、心血管和神经系统等领域。但物理性缺氧的设备价格昂贵,且需要定期维护气体检测系统。此外,在转移细胞过程中,外界氧气难免会进入培养环境,从而影响缺氧环境。这种构建模型的方法对实验室资金及人员技术条件要求较高,难以广泛应用。

1.3 基因工程缺氧模型

基因工程技术通过对细胞内特定基因进行编辑、调控或导入外源基因,干预细胞与缺氧反应密切相关的信号通路、代谢途径或细胞功能相关基因,改变细胞在缺氧环境下的生物学行为,构建符合研究需求的细胞缺氧模型^[16,17]。基因工程可根据研究需求结合多组学技术定制模型,具有特异性和针对性^[18]。然而基因标记技术目前仍存在脱靶效应,可能导致非预期的基因改变从而影响实验结果的准确性(见表 1)。

2 细胞缺氧的病理机制及模型评价指标

2.1 能量代谢紊乱与线粒体结构功能障碍

能量代谢是指生物体内物质代谢时所伴随的能量释放、转移、储存和利用的过程。细胞能量主要由线粒体呼吸作用提供,其中氧气参与了线粒体电子传递链,是细胞能量代谢不可或缺的环节^[19]。在缺氧条件下,细胞能量代谢系统首先

受到影响。线粒体是能量代谢的中心环节,通过氧化磷酸化产生能量(ATP)以维持机体需求,并且在内源性的信号传导中处于中心位置^[20]。当氧气供应不足时可直接抑制线粒体电子传递链,特别是复合物 I 和 IV 的活性,线粒体氧化磷酸化的效率下降,导致 ATP 生成减少,最终导致能量供应不足。细胞为了维持基本能量需求,进而激活替代性能量途径,如糖酵解,虽然这种代谢编程能够产生 ATP,但其效率低下且产生大量乳酸,将进一步恶化细胞内环境^[21]。同时,缺氧还会影响线粒体的形态学特征,如线粒体膜电位下降、线粒体膨胀、嵴减少等,这些变化可进一步加剧线粒体功能障碍^[22-24]。

因此,在评价细胞缺氧模型时,细胞能量代谢状态和线粒体的功能状态是评价缺氧导致细胞损伤的关键。乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)是糖酵解通量的关键示踪指标,可反映糖酵解水平,常用比色法和荧光法来进行检测。NAD⁺/NADH 是糖酵解过程中两种关键辅酶,起到代谢枢纽的作用,通常使用酶循环法来进行检测。ATP 是能量危机的直接生物标志物,在急性缺氧时糖酵解代偿使 ATP 短暂维持,当组织处于持续缺氧时,糖酵解效率不足导致 ATP 耗竭,常用比色法或荧光法来进行 ATP 含量的测定。通过荧光或流式细胞术来检测线粒体膜电位($\Delta\Psi_m$)的变化是线粒体能量代谢功能的核心指标,可线粒体膜电位的降低预示 ATP 合成效率下降。检测氧化磷酸化相关基因 mRNA 的水平(如 ND1-6、ND4L、ATP6、ATP8 等),这些基因编码线粒体电子传递链复合物 I 和 ATP 合酶的关键亚基,旨在评估细胞在应对缺氧压力时,是否通过上调这些关键基因的表达来修复或增强线粒体和 ATP 合成能力。

2.2 活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生与 OS

ROS 是生物有氧代谢过程中的副产物。在正常生理条件下,细胞内的 ROS 水平受到严格的调节,且在细胞内发挥双重作用:低浓度时作为信号分子参与多种生理过程的调节,高浓度时则导致机体出现氧化损伤^[25,26]。当机体内 ROS 的产生和清除水平失衡,则出现 OS。缺氧条件下,ROS 的产生显著增加,可诱发 OS^[27]。此外,ROS

不仅直接导致氧化损伤,还可通过激活多种信号通路参与细胞命运的调控,如激活 NF- κ B、Nrf2/HO-1 等信号通路进一步影响细胞的生存、增殖和死亡^[28,29]。

OS 水平是评估缺氧诱导的氧化损伤程度以及细胞自身防御效能的关键指标。检测细胞内总 ROS 水平是细胞是否发生 OS 的直接证据,线粒体特异性 ROS 的检测是发现缺氧损伤的源头,对评价线粒体功能障碍具有重要意义。丙二醛 (glutaraldehyde,MDA)作为脂质过氧化的特异性

最终产物,它的水平可反映细胞结构氧化损伤的氧化程度,当细胞膜完整性被破坏,MDA 水平则升高。超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽 (glutathione, GSH)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 等同样也是细胞内关键的抗氧化酶和分子,检测其含量可以反映细胞清除 ROS 的内源能力。

2.3 HIF 信号通路激活与下游效应

HIF 是一种转录因子,细胞 HIF 信号通路的激活在机体对低氧环境的响应中发挥关键作用。

表 1 不同缺氧模型方法的分类、原理及特点

Table 1 Classification, principles, and characteristics of different hypoxia modeling methods

模型类别 Model category	具体方法 Concrete method	原理 Principle	适用场景 Applicable scenarios	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
化学性缺氧模型 Chemical hypoxia models	连二亚硫酸钠 ^[9] Na ₂ S ₂ O ₄	环境耗氧型:消耗细胞培养液内溶解氧,造成培养环境物理性缺氧 Environmental oxygen consumption type: consumes dissolved oxygen in cell culture medium, causing physical hypoxia in the culture environment	短期、剧烈的短程缺氧刺激;验证缺氧响应元件的快速激活 Short-term intense hypoxia; rapid activation validation of hypoxia-responsive elements	起效快,低成本 Rapid onset, low cost	作用不稳定,易复氧;化学毒性强,产生细胞毒性副产物,干扰细胞代谢 Unstable effect with rapid reoxygenation risk; significant cytotoxicity and byproduct generation
	氯化钴 ^[10] CoCl ₂	分子模拟型:Co ²⁺ 取代 HIF-1 α 降解过程中 PHD 的 Fe ²⁺ ,抑制 HIF-1 α 降解,模拟缺氧信号 Molecular simulation type: Co ²⁺ replaces Fe ²⁺ in PHD during HIF-1 α degradation, inhibits HIF-1 α degradation, and simulates hypoxic signals	研究 HIF-1 α 信号通路的经典工具;筛选或验证 HIF 靶基因的表达 Classical tools for studying HIF-1 α signaling pathway; screening or verifying the expression of HIF target genes	应用最广泛的化学缺氧模拟试剂;使用简便,直接添加,效果稳定,可重复性强 The most widely used chemical hypoxia simulation reagent; Easy to use, stable effect and strong repeatability	具有细胞毒性,可抑制细胞增殖、诱导凋亡;其效应局限于 HIF 通路 It is cytotoxic and can inhibit cell proliferation and induce apoptosis; its effect is limited to the HIF pathway
	去铁胺 ^[11] DFO	分子模拟型:通过剥夺 PHD 活性所需的 Fe ²⁺ ,模拟缺氧信号 Molecular simulation type: simulating hypoxic signals by depriving PHD activity of the required Fe ²⁺	HIF 信号通路的研究,但对 Co ²⁺ 敏感或需要较低毒性的细胞类型 Study of HIF signaling pathway, but cell types that are sensitive to Co ²⁺ or require lower toxicity	毒性相对 CoCl ₂ 较低 The toxicity is relatively low compared with CoCl ₂	铁螯合作用可能干扰其他铁依赖的细胞过程 Iron chelation may interfere with other iron dependent cells
	氰化钠 ^[12] NaCN	代谢抑制型:与细胞线粒体细胞色素 C 氧化酶不可逆结合,抑制电子传递链,直接阻断有氧呼吸 Metabolic inhibition type: irreversibly combines with cytochrome C oxidase of cellular mitochondria, inhibits electron transport chain, and directly blocks aerobic respiration	急性、严重的缺血/缺氧性能量代谢崩溃和细胞死亡机制 Acute and severe ischemic / hypoxic energy metabolism collapse and cell death mechanisms	起效快,真实地模拟缺血/缺氧时细胞能量代谢危机状态 It takes effect quickly and truly simulates the crisis state of cellular energy metabolism during ischemia/hypoxia	剧毒,效应过于剧烈,不可逆的细胞损伤和快速死亡 Highly toxic, the effect is too intense, irreversible cell damage and rapid death

续表1

模型类别 Model category	具体方法 Concrete method	原理 Principle	适用场景 Applicable scenarios	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
物理性缺氧模型 Physiological hypoxia models	三气培养箱 ^[15] Tri-gas incubator	通过精确控制培养环境中的 O ₂ 、CO ₂ 和 N ₂ 比例,创造稳定、可控的低氧环境 Precisely controls O ₂ , CO ₂ , and N ₂ levels to create a stable and controllable hypoxic environment	长期、稳定缺氧的精细研究;模拟生理性缺氧或慢性疾病 Long-term, stable hypoxia studies; chronic disease modeling	最接近生理/病理缺氧状态;条件可控,重复性好;对细胞无化学毒性 Closest to physiological/pathological state; non-chemotoxic; highly controllable and reproducible	设备昂贵;操作相对复杂 Expensive equipment; complex operation
	密封容器+耗氧剂/气体置换 ^[13, 14] Sealed chamber + O ₂ scavenger/gas replacement	使用厌氧罐、密封袋等,加入化学耗氧剂或充入混合惰性气体来消耗氧气 Use anaerobic tank, sealed bag, etc., add chemical oxygen consumption agent or fill mixed inert gas to consume oxygen	短期缺氧刺激实验 Short-term hypoxia stimulation	成本低;方法简单;适合少量样品 Low cost; simple procedure; small-scale sample culture	氧浓度控制不精确,可能产生有害副产物;缺氧持续时间短 Imprecise O ₂ control; potential harmful byproducts; short hypoxic duration
基因工程缺氧模型 Genetically engineered hypoxia models	缺氧相应元件(HRE)驱动报告基因 ^[16] HRE-driven reporter gene	HRE 与报告基因连接,转染细胞。缺氧时 HIF 激活,表达报告基因,定量检测缺氧程度 HRE linked to a reporter gene; HIF activation induces reporter expression for quantitative hypoxia detection	高通量筛选缺氧模拟物;实时监测缺氧动力学 High-throughput screening of hypoxia mimetics; real-time monitoring of hypoxia kinetics	灵敏度高,可实时、动态检测细胞内缺氧信号通路活性 High sensitivity; enables real-time dynamic monitoring of hypoxia signaling activity	仅报告 HIF 通路活性,不代表整体缺氧表型 Only reports HIF pathway activity; does not reflect overall hypoxic phenotype
	过表达/敲减 HIF 或其靶基因 ^[17] Overexpression/knockdown of HIF or its target genes	质粒、慢病毒等工具,直接上调或下调 HIF-1 α 等关键基因的表达 Direct modulation of HIF-1 α or key gene expression using plasmids, lentiviruses, etc.	深入研究 HIF 或其特定靶基因在缺氧应答中的具体作用机制 Mechanistic studies on the role of HIF or its target genes in hypoxic response	因果关系明确,直接研究特定基因功能 Clear causality, direct study of specific gene function	技术复杂;存在脱靶效应;无法模拟缺氧时全局性代谢改变 Technically complex with potential off-target effects; fails to mimic global metabolic changes in hypoxia

其通过调节多种下游基因表达,影响细胞的代谢、血管生成、细胞凋亡和细胞自噬等多个方面^[30]。HIF 由 α 亚基和 β 亚基组成,其中 α 亚基是氧依赖性的,而 β 亚基作用是组成型表达。在正常氧浓度下,HIF-1 α 通过 PHD 的羟化修饰降解 HIF- α 亚基。而在缺氧条件下,PHD 活性下降,HIF- α 亚基会积累并转移到细胞核中,与 HIF- β 亚基结合形成 HIF 复合物^[15,31]。

HIF-1 α 调节的下游基因包括糖酵解酶、乳酸转运蛋白、VEGF、EPO 等^[32]。因此,在评价细胞缺氧模型时,HIF 信号通路相关表达水平及其下游基因的表达变化是重要的评价指标。

2.4 细胞程序性死亡

在缺氧条件下,细胞程序性死亡增加是导致组织损伤和功能障碍的重要原因,包括细胞凋亡、自噬等程序性死亡过程。机体缺氧时,细胞

凋亡可以通过多种途径被激活。其中,线粒体依赖性凋亡是最主要的途径之一。缺氧导致线粒体膜电位下降,细胞色素 C 释放,激活半胱氨酸蛋白酶家族中 caspase-9,进而激活下游 caspase-3 和 caspase-7,最终导致细胞凋亡^[33]。内质网是细胞内蛋白质合成和折叠的主要场所,缺氧条件下,细胞为了适应环境变化会启动一系列的应激反应,导致蛋白质折叠错误和未折叠蛋白的积累而激活未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)。如果应激持续存在,UPR 会从适应性转变为促凋亡性,最终导致细胞凋亡^[34]。当机体供氧不足时,细胞会自动启动自噬机制。研究表明缺氧可通过抑制 mTOR 通路、激活 HIF 信号通路,并通过 HIF-1 α 促进 BNIP3 和 BNIP3L 的表达来促进自噬并抑制凋亡^[31]。因此,当研究细胞在缺氧条件下的程序性死亡时,通过聚合酶链式反应和蛋白质免疫印迹技术来检测相关基因和蛋白表达是主要的评价方法。

2.5 微环境交互与免疫调节

微环境交互和免疫调节变化对组织功能和

疾病进展具有重要影响。在缺氧条件下,细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的组成和结构发生变化,研究表明,缺氧导致 ECM 降解增加,细胞黏附减少,细胞迁移增加,有利于肿瘤细胞侵袭和转移^[35]。缺氧时,凋亡的组织内皮细胞会导致血管完整性丧失,使免疫细胞浸润增加,凝血性增强并出现增强增殖能力的凋亡抵抗性内皮细胞,进而促进血管重塑的发展^[34]。然而,缺氧条件下形成的血管往往存在结构异常,通透性增加特点,这种变化进一步影响组织微环境^[36]。在免疫调节方面,缺氧对免疫细胞的功能和分布具有明显的影响。研究表明,缺氧条件下,巨噬细胞的极化向促炎型(M1 型)转变,而产生大量炎症因子,促进炎症反应^[37]。缺氧对 T 细胞的影响尚不明确,但一些研究表明,T 细胞活化和效应功能依赖于氧气的存在,另一些研究则提示了 HIF-1 α 信号通路可增强 T 细胞的功能来应对缺氧反应^[38,39]。因此,利用免疫共培养,流式细胞术等技术来分析细胞微环境和免疫相关指标对缺氧模型评价具有重要意义(见表 2)。

表 2 细胞缺氧模型核心评价指标

Table 2 Core evaluation metrics for cellular hypoxia models

评价维度 Evaluation dimension	代表性指标/技术 Representative metrics/techniques	检测目的 Detection purpose
细胞增殖与凋亡 ^[29, 40, 41] Cell proliferation and apoptosis	EdU/CCK-8/MTT(细胞增殖); Annexin-V/PI 流式(细胞凋亡); LDH 释放(细胞坏死) EdU/CCK-8/MTT(cell proliferation); Annexin-V/PI flow (cell apoptosis); LDH release(cell necrosis)	细胞存活率、死亡模式 Cell viability, mode of cell death
能量代谢状态 ^[40, 42] Energy metabolism status	质谱/代谢组学(代谢物); 乳酸含量; LDH 活性; NAD ⁺ /NADH 比值; ATP 含量检测 Mass spectrometry/metabolomics (metabolites); LDH activity; NAD ⁺ /NADH; measurement of ATP content	糖酵解水平、氧化磷酸化效率、能量变化 Glycolytic level, OXPHOS efficiency, energy charge
氧化应激水平 ^[41-45] Oxidative stress level	MDA/SOD/GSH/CAT(氧化损伤); DCFH-DA(总 ROS); MitoSOX(线粒体 ROS); Seahorse analyzer(线粒体功能) MDA/SOD/GSH/CAT (oxidative damage); DCFH-DA (total ROS); MitoSOX (mitochondrial ROS); seahorse analyzer (mitochondrial function)	ROS 爆发强度、抗氧化能力、氧化损伤产物 ROS burst intensity, antioxidant capacity, oxidative damage
线粒体功能 ^[42] Mitochondrial function	JC-1/TMRM(膜电位); MitoTracker(质量/形态); Seahorse Analyzer(呼吸功能); mtDNA/nDNA 比值(生物发生) JC-1/TMRM (membrane potential); MitoTracker (quality/morphology); Seahorse analyzer (respiratory function); mtDNA/nDNA ratio (biogenesis)	线粒体健康状态、膜完整性、生物发生 Mitochondrial health, membrane integrity, biogenesis
细胞适应性响应 ^[46-48] Cellular adaptive response	qPCR/Western blot(检测 HIF 下游基因,如 VEGF、GLUT1、BNIP3 等) qPCR/Western blot (detect downstream genes of HIF, such as VEGF, GLUT1, BNIP3, etc.)	HIF 下游基因表达 Expression of HIF downstream genes
微环境影响 ^[49, 50] Microenvironmental impact	流式细胞术(免疫细胞分型); 免疫共培养(免疫杀伤); ELISA/MSD(细胞因子,如 IL-1 β 、IL-18) Flow cytometry (immune cell typing); immune co-culture (immune killing); ELISA/MSD (cytokines, such as IL-1 β , IL-18)	缺氧介导的免疫抑制、炎症因子的释放 Hypoxia-mediated immunosuppression, inflammatory factor release

3 不同组织细胞缺氧模型特点

3.1 慢性肺疾病

肺是机体与外界进行气体交换的核心器官,其结构与功能的稳态高度依赖氧分压的动态平衡。缺氧作为重要的病理生理刺激,不仅可触发肺的适应性代偿机制来维持供需平衡,在慢性病理状态下还驱动肺组织重塑与功能损伤,其涉及通气调节、血管反应及信号传导等多个层面。急性缺氧会使肺部血管平滑肌细胞暂时收缩,而慢性缺氧则会导致肺动脉高压(pulmonary hypertension, PH),这主要与肺动脉内皮细胞(pulmonary artery endothelial cells, PAECs)与微血管内皮细胞(microvascular endothelial cells, MVECs)受损或功能失调有关,PAECs 响应缺氧而增殖,而 MVECs 则发生细胞凋亡,这种变化可导致肺血管重塑及异常血管生成^[51]。此外,缺氧还通过影响线粒体产生 ROS,导致 HIF-1 α 的长期激活,进而引发一系列反应,导致 PH 的发生^[52]。

在模型构建上,细胞选择以肺动脉平滑肌细胞(pulmonary artery smooth muscle cells, PSMCs)、PAECs 和大鼠肺微血管内皮细胞(pulmonary microvascular endothelial cells, PMVECs)为主,采用长时间暴露于缺氧培养箱(1%~5% O₂)模拟细胞缺氧环境。YANG 等^[34]将 PAECs 暴露于低氧环境(1% O₂)下,构建了细胞缺氧模型,探讨 TRPC4 如何加重 PH。ZHAN 等^[53]使用大鼠 PMVECs 建立 H/R 细胞模型,通过将细胞暴露于缺氧环境中缺氧 8 h,再复氧 6 h 来模拟肺缺血再灌注损伤。JIANG 等^[54]通过将 PSMCs 细胞暴露于低氧环境中 48 h 来构建细胞缺氧模型,旨在通过细胞缺氧模型研究甲基转移酶样 3(methyl transferase-like 3, METTL3)在缺氧诱导的 PSMCs 焦亡中的作用机制。HU 等^[55]将 PSMCs、PMVECs 和周细胞(pericyte cells, PCs)在缺氧条件下(5% O₂、5% CO₂)暴露 24 h,通过全转录组测序分析 3 种不同血管细胞类型中环状 RNA(circRNA)的差异表达,来探究 PH 的早期诊断和潜在治疗靶点。

3.2 心血管系统

氧气在维持心肌功能及调控心血管稳态中发挥多重作用。其通过调控一氧化氮(NO)、ROS

平衡、酶活性网络及 HIF 信号通路,在维持心肌功能及调控心血管稳态中发挥多重作用。在生理状态下,氧气参与 NO 的合成,该化合物是重要的血管舒张因子,一方面可通过激活鸟苷酸环化酶(guanylate cyclase, GC)促进心肌细胞收缩协调性,另一方面可通过调节血管平滑肌细胞张力实现血管舒缩功能的动态平衡^[56,57]。在氧化代谢过程中,氧气还参与 ROS 的生成和调控缺氧相关酶活性。低水平的 ROS 可作为信号分子参与心肌细胞分化、增殖等生理过程,而过量 ROS 则会引发 OS,破坏细胞膜脂质结构,损伤 DNA 及蛋白质^[58]。HIF 在心脏氧稳态中具有双重作用。急性缺氧时,HIF-1 α 通过诱导 VEGF 等基因表达促进侧支循环建立及红细胞生成,发挥心肌保护作用^[59]。当长期缺氧时,HIF 持续激活可诱导心肌纤维化相关基因,如转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)表达,加剧心肌重构,最终进展为心力衰竭^[60,61]。

在模型构建上,细胞选择以小鼠原代心肌细胞或大鼠心肌细胞(H9C2)细胞系为主。缺氧模拟采用低氧培养箱设置 2%~5% O₂ 浓度,或结合糖氧剥夺(oxygen-glucose deprivation, OGD)模拟急性缺血缺氧,复氧环节可模拟缺血再灌注损伤。KOSANAM 等^[33]利用 100~150 μ mol/L CoCl₂ 溶液将 H9C2 心肌细胞暴露于 8 h 的缺氧环境,随后去除 CoCl₂ 的影响,在正常条件下进行 24 h 的复氧处理,构建 H/R 细胞模型,利用此模型来研究肉桂酰咪唑对减轻心肌梗死引起的 OS 和凋亡的作用。CHEN 等^[48]从新生小鼠心肌组织中分离出来原代心肌细胞,分别在培养箱中以正常氧条件(21% O₂)和低氧条件(2% O₂)进行培养来建立细胞缺氧模型,持续时间分别为 1、3、6、9 和 12 h。

3.3 肾脏系统

肾血流量占心输出量的 20%~25%,肾脏的高代谢特性使其对缺血缺氧极为敏感^[62]。肾小管在缺氧条件下产生能量的能力有限,并且在代谢过程中氧气的消耗迅速^[63]。因此,肾结构和高氧需求结合在一起,使得肾脏容易受到导致缺血条件的影响。肾结构中的肾小管细胞具有重吸收功能,此过程消耗大量能量,因此其成为研究肾脏缺氧损伤的首要靶细胞。缺氧时,肾小管上

皮细胞线粒体自噬损伤,ROS 大量产生,进而触发细胞凋亡与坏死^[64,65];同时缺氧激活肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS),促进 TGF- β 1 与结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)分泌,诱导肾间质成纤维细胞活化与细胞外基质沉积,加速肾纤维化进程^[66]。此外,缺氧还可导致肾小球滤过功能障碍,引发蛋白尿与肾功能不全^[67]。

这些病理改变相互作用,可加速肾脏疾病进展。构建精准且具有代表性的肾脏组织模型,是深入研究相关疾病病理机制的关键。模型构建时,细胞主要选择肾小管上皮细胞。ZHANG 等^[68]将人肾小管上皮细胞(HK-2)在缺氧培养箱中(94% N₂、1% O₂ 和 5% CO₂),持续培养 12 h,模拟缺氧状态。随后在正常培养条件下(37 °C, 5% CO₂)继续培养 2、3 或 4 h,模拟再灌注状态。BAI 等^[69]使用缺氧培养箱先将肾小管上皮细胞(RTECs)在正常培养箱中培养一段时间,之后分别暴露于常氧条件(37 °C、21% O₂、5% CO₂)和低氧条件(37 °C、5% O₂、5% CO₂),每 24 h 从低氧处理组收集样品,分析不同缺氧时间点的变化。

3.4 肝脏系统

肝脏作为人体物质代谢、解毒及合成功能的核心器官,其正常功能依赖稳定的氧气供应,而缺氧可通过影响肝细胞能量代谢、激活应激通路及调控细胞命运,引发一系列病理生理改变。其中,HIF 是目前发现的最重要的低氧应激因子^[70]。研究显示,慢性缺氧可加重慢性肝损伤,HIF-2 α 通过重编程肝脏巨噬细胞,使机体出现适应性调控,避免急性肝损伤^[71,72]。但急性缺氧可快速引发肝细胞功能障碍甚至坏死,核心机制包括能量代谢障碍、OS 与细胞凋亡等病理重塑过程^[73-75]。

基于上述病理机制,肝脏组织特异性缺氧模型的构建需围绕模拟代谢紊乱与纤维化进程展开,通过精准调控细胞、缺氧环境及微环境,实现对肝脏缺氧病理过程的系统性还原。模型构建体系中,细胞体系以原代肝细胞和肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)为主。NING 等^[76]将小鼠肝脏细胞系(AML12)在浓度控制为 1% O₂ 培养箱中培养来构建细胞缺氧模型。LI 等^[77]将

HSCs 每 60 s 循环中,暴露于 14%~15%O₂ 中 5 s,持续 12、24 或 48 h,以此来模拟慢性间歇性缺氧对 HSCs 的影响。

3.5 实体肿瘤

缺氧是 90% 实体瘤中广泛存在的一种特质,与肿瘤的增殖、分化、血管生成、能量代谢等密切相关^[78]。缺氧状态下,肿瘤细胞通过激活 HIF-1 α /HIF-2 α 通路,上调 GLUT1 与乳酸脱氢酶 A(lactate dehydrogenase A, LDHA)的表达,增强糖酵解代谢,产生“瓦博格效应”^[79]。同时,VEGF、趋化因子(如 CXCL12)的分泌,会招募内皮细胞和肿瘤相关巨噬细胞,促进肿瘤血管生成与免疫逃逸^[80,81]。缺氧还可通过上皮-间质转化增强肿瘤细胞的侵袭与转移能力,并诱导癌干细胞(cancer stem cells, CSCs)富集,导致出现耐药与肿瘤复发^[36,82,83]。

肿瘤组织这种复杂的缺氧微环境病理机制,决定了其特异性模型的构建需整合多维度技术手段,实现对肿瘤恶性生物学行为的精准模拟,以契合肿瘤在体内的真实生理状态。在模型构建过程中需兼顾肿瘤细胞的多样性与缺氧环境的动态变化,大多选择肿瘤细胞系和原代肿瘤细胞。HARADA 等^[49]使用 DFO 作用于小鼠的肾细胞癌细胞系(RENCA)使细胞处于缺氧状态,并结合基因芯片分析,来研究肿瘤组织中免疫细胞浸润减少的原因。YU 等^[84]将 LN229 人胶质母细胞瘤细胞(GBM)、Huh7 人肝细胞癌细胞(HCC)和人口腔角质形成细胞(HOK)三种细胞培养在 1% O₂ 的环境中 12 h 以构建细胞缺氧模型,来探究低氧条件下肿瘤细胞自噬的早期激活机制(见表 3)。

4 讨论

细胞缺氧模型在推动缺氧相关研究中发挥重要作用,寻求更科学的构建方法已成为缺氧机制研究和临床靶向治疗的关键。目前应用的物理缺氧、化学诱导及基因编辑等方法各具特色:物理缺氧方式可不引入外源化合物而高度模拟体内缺氧环境,避免代谢副产物干扰,在细胞缺氧模型研究中占据重要地位,其虽能营造低氧环境,却无法呈现如实体肿瘤中缺氧的时空变化以及脑缺血后的再灌注损伤等复杂过程;化学诱

表 3 不同组织/疾病细胞缺氧模型特点与应用

Table 3 Characteristics and applications of cellular hypoxia models in different tissues/diseases

组织/疾病 Tissue/Disease	常用细胞类型 Commonly used cell types	模型构建参数 Key parameters for modeling	主要观测指标/表型 Major readouts/phenotypes
慢性肺疾病 ^[34, 53-55] Chronic lung diseases	肺动脉平滑肌细胞 (PASMCs)、肺动脉/肺微血管内皮细胞 (PAECs/PMVECs) Pulmonary artery smooth muscle cells (PASMCs); pulmonary artery/pulmonary microvascular endothelial cells (PAECs/PMVECs)	慢性持续性缺氧; 慢性间歇性缺氧 Chronic sustained hypoxia; chronic intermittent hypoxia	EMT、炎症因子释放 (如 IL-6, IL-8)、细胞外基质沉积 (纤维化) EMT, release of inflammatory factors (such as IL-6, IL-8), extracellular matrix deposition (fibrosis)
心血管系统 ^[33, 48] Cardiovascular system	原代心肌细胞、心肌细胞 (H9c2) Primary cardiomyocytes, cardiomyocytes (H9c2)	急性严重缺氧/氧糖剥夺 (OGD)、慢性中度缺氧、缺氧/复氧模型 Acute severe hypoxia/Oxygen-glucose deprivation (OGD); chronic moderate hypoxia; hypoxia/reoxygenation model	细胞凋亡/坏死、线粒体功能、血管生成因子表达 Apoptosis/Necrosis, mitochondrial dysfunction; angiogenic factor expression
肾脏系统 ^[68, 69] Renal system	肾小管上皮细胞系 (HK-2) Renal tubular epithelial cell line (HK-2)	缺氧/复氧模型模拟缺血再灌注 The hypoxia/reoxygenation model simulates ischemia-reperfusion	屏障功能破坏、炎症反应、促纤维化因子 Barrier dysfunction, inflammatory response, pro-fibrotic factor
肝脏系统 ^[76, 77] Hepatic system	原代肝细胞、肝星状细胞 (HSCs) Primary hepatocytes, hepatic stellate cells (HSCs)	慢性间歇性缺氧 Chronic intermittent hypoxia	细胞凋亡、星状细胞活化、HIF 靶基因、氧化应激 Apoptosis, Stellate cell activation, HIF target gene, oxidative stress
实体肿瘤 ^[49, 84] Solid tumors	各种癌细胞系 Various cancer cell lines	急、慢性缺氧整合其他微环 (整合酸中毒、营养匮乏等压力) Acute and chronic hypoxia integrate other microenvironments (integrate the pressure of acidosis, nutrient deprivation, etc.)	HIF 靶基因、糖酵解重编程、侵袭/迁移能力、治疗抵抗 HIF target genes, glycolytic reprogramming, invasion/migration capacity, stemness, therapeutic resistance

导模型虽能实现对特定因子的调控,因其化学物质特性,可能对细胞代谢产生非特异性干扰,使模型结果于体内实际情况存在偏差。更为关键的是,不同组织对缺氧的应答存在显著差异,慢性肺病的缺氧区域性、神经细胞的高敏感性、肿瘤细胞的代谢适应性等特征在多采用单一诱导方式的模型中未得到充分体现,导致模型难以精准反应特定疾病的病理机制。同时,评价体系的单一化,仅依赖少数分子指标来判断模型有效性,忽略了组织特异性,进一步降低了模型的适用性。

基于这些问题,分析缺氧发生发展机制及指标评价,以组织生物学特性为核心进行模型的优化具有创新意义。现提出以下几点优化方案:

(1) 利用机器学习调控缺氧暴露: 基于不同组织对缺氧反应时间存在显著差异,以及不同疾病缺氧特点不同,可利用机器学习在模型构建过程中

自动调整氧气浓度、缺氧暴露时间以及复氧频率,以贴合体内损伤的缺氧条件。(2) 在微环境构建方面: 结合 3D 培养技术与组织特异性,能更好地模拟体内环境,如心肌细胞模型适用胶原蛋白-明胶水凝胶模拟心肌间质,神经细胞模型通过添加星形胶质细胞共培养复现神经炎症微环境。(3) 多模态数据融合: 通过实验数据和文献挖掘整合分子、功能、病理三层指标,如在心肌细胞上整合分子 (HIF-1 α)、功能 (收缩力) 和病理 (表型) 三方面表达的关系,形成心肌细胞缺氧模型有效性指数,从而实现不同组织细胞模型评价时采取相应的特异性指标来验证,以确保模型能匹配相关疾病的特征。(4) 增加模型验证环节: 利用已知对特定组织缺氧有保护或加剧作用的药物处理模型,观察结果是否符合预期,以此作为模型验证依据。

对现有模型进行优化,最终目标是构建出一系列具有高度针对性和病理相关性细胞缺氧模型。这些模型将为研究特定组织缺氧相关疾病(如慢性阻塞性肺病、心肌梗死、缺血性脑卒中、肿瘤耐药及慢性肾病等)的机制、筛选保护药物、评估治疗策略,提供更可靠、更具观测价值的体外研究平台。

参考文献:

- [1] LUO Z, TIAN M, YANG G, et al. Hypoxia signaling in human health and diseases; implications and prospects for therapeutics [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7 (1): 218.
- [2] LODGE K M, VASSALLO A, LIU B, et al. Hypoxia increases the potential for neutrophil-mediated endothelial damage in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2022, 205(8): 903–916.
- [3] DALE T P, SANTER M D, HARIS M, et al. Hypoxic conditions promote a proliferative, poorly differentiated phenotype in COPD lung tissue progenitor cells *in vitro* [J]. *Exp Lung Res*, 2023, 49(1): 12–26.
- [4] SCHITO L, REY-KEIM S. Editorial-Hypoxia as a molecular driver of cancer progression [J]. *Semin Cancer Biol*, 2025, 111: 36–38.
- [5] BURTSCHER J, MALLET R T, BURTSCHER M, et al. Hypoxia and brain aging: Neurodegeneration or neuroprotection? [J]. *Ageing Res Rev*, 2021, 68: 101343.
- [6] 李靖, 徐东阳, 李昌卿, 等. 缺氧细胞模型的研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2024, 34(11): 132–144.
LI J, XU D Y, LI C Q, et al. Research progress on hypoxic cell models [J]. *Chin J Comp Med*, 2024, 34(11): 132–144.
- [7] 冯岚, 陈德伟, 高文祥, 等. 7 种不同组织来源细胞缺氧损伤效应评价 [J]. *第三军医大学学报*, 2019, 41(6): 570–574.
FENG L, CHEN D W, GAO W X, et al. Evaluation of hypoxic injuries in 7 cell lines derived from different human tissues [J]. *J Third Mil Med Univ*, 2019, 41(6): 570–574.
- [8] LIU N, ZHANG X L, JIANG S Y, et al. Neuroprotective mechanisms of DNA methyltransferase in a mouse hippocampal neuronal cell line after hypoxic preconditioning [J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15(12): 2362–2368.
- [9] LINGTI Z, SHIJUN W, XUEFENG D, et al. Comparison of two methods in establishing a hypoxia model of micro vessel endothelial cells in rat myocardium [J]. *Clin Cardiol*, 2014, 30(9): 815–822.
- [10] WANG Y, WU Z, TIAN J, et al. Intermedin protects HUVECs from ischemia reperfusion injury *via* Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Ren Fail*, 2019, 41(1): 159–166.
- [11] LI Z, LI S, YANG J, et al. 3D bioprinted gelatin/gellan gum-based scaffold with double-crosslinking network for vascularized bone regeneration [J]. *Carbohydr Polym*, 2022, 290: 119469.
- [12] BATEMAN J R, TABER K H, HURLEY R A. Complex metal ions: neuropsychiatric and imaging features [J]. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 2020, 32(4): A4–321.
- [13] 谢晓泳, 陈宁园, 潘尚领, 等. miR-193b-5p 对缺血缺氧诱导心肌细胞凋亡的调控作用 [J]. *中国病理生理杂志*, 2025, 41(4): 637–644.
XIE X Y, CHEN N Y, PAN S L, et al. Regulatory effect of miR-193b-5p on apoptosis of cardiomyocytes induced by ischemia-hypoxia [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2025, 41(4): 637–644.
- [14] 赵梓岐, 张敏, 杨涛, 等. 缺氧诱导的 circ_0007766 表达在前列腺癌细胞增殖、迁移和侵袭中的作用 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2025, 32(5): 460–468.
ZHAO Z Q, ZHANG M, YANG T, et al. Role of hypoxia-induced circ_0007766 expression in proliferation, migration and invasion of prostate cancer cells [J]. *Chin J Cancer Biother*, 2025, 32(5): 460–468.
- [15] LEE P, CHANDEL N S, SIMON M C. Cellular adaptation to hypoxia through hypoxia inducible factors and beyond [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(5): 268–283.
- [16] DOU B, ZHENG X, TAN D, et al. The effect of HRE-regulated VEGF expression and transfection on neural stem cells in rats [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 580824.
- [17] ZHAO M, WANG S, ZUO A, et al. HIF-1 α /JMJD1A signaling regulates inflammation and oxidative stress following hyperglycemia and hypoxia-induced vascular cell injury [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2021, 26(1): 40.
- [18] YAN Y, JIANG R, YUAN P, et al. Implication of proliferation gene biomarkers in pulmonary hypertension [J]. *Anim Model Exp Med*, 2021, 4(4): 369–380.
- [19] CHUN Y, KIM J. AMPK-mTOR signaling and cellular adaptations in hypoxia [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 (18): 9765.
- [20] NISAR H, SANCHIDRIÁN GONZÁLEZ P M, BRAUNY M, et al. Hypoxia changes energy metabolism and growth rate in non-small cell lung cancer cells [J]. *Cancers*, 2023, 15 (9): 2472.
- [21] LI Y, ZHANG J, SUN H, et al. RPS4XL encoded by lnc-Rps4l inhibits hypoxia-induced pyroptosis by binding HSC70 glycosylation site [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2022, 28: 920–934.
- [22] KANG J J, FUNG M L, ZHANG K, et al. Chronic intermittent hypoxia alters the dendritic mitochondrial

- structure and activity in the pre-Bötzinger complex of rats [J]. *FASEB J*, 2020, 34(11): 14588–14601.
- [23] GUPTA K J, LEE C P, RATCLIFFE R G. Nitrite protects mitochondrial structure and function under hypoxia [J]. *Plant Cell Physiol*, 2017, 58(1): 175–183.
- [24] HUANG X, ZHAO L, PENG R. Hypoxia-inducible factor 1 and mitochondria: an intimate connection [J]. *Biomolecules*, 2022, 13(1): 50.
- [25] SIES H, JONES D P. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(7): 363–383.
- [26] WANG Y, BRANICKY R, NOË A, et al. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling [J]. *J Cell Biol*, 2018, 217(6): 1915–1928.
- [27] TAUFFENBERGER A, FIUMELLI H, ALMUSTAFA S, et al. Lactate and pyruvate promote oxidative stress resistance through hormetic ROS signaling [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(9): 653.
- [28] NIU H, GUO F, LI W. Stibene glucoside prevents PM_{2.5} caused pulmonary fibrosis by Pseudo hypoxia, autophagy and NF- κ B signal pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2025, 156: 114674.
- [29] SI J, LIU B, QI K, et al. Tanshinone IIA inhibited intermittent hypoxia induced neuronal injury through promoting autophagy *via* AMPK-mTOR signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 315: 116677.
- [30] MCGETTRICK A F, O'NEILL L A J. The role of HIF in immunity and inflammation [J]. *Cell Metab*, 2020, 32(4): 524–536.
- [31] HILL R M, FOK M, GRUNDY G, et al. The role of autophagy in hypoxia-induced radioresistance [J]. *Radiother Oncol*, 2023, 189: 109951.
- [32] RASHID M, ZADEH L R, BARADARAN B, et al. Up-down regulation of HIF-1 α in cancer progression [J]. *Gene*, 2021, 798: 145796.
- [33] KOSANAM S, PASUPULA R. Cardioprotective effects of cinnamoyl imidazole on apoptosis and oxidative stress in hypoxia/reoxygenation-induced H9C2 cell lines [J]. *Life Sci*, 2024, 359: 123189.
- [34] YANG L, PENG Z, GONG F, et al. TRPC4 aggravates hypoxic pulmonary hypertension by promoting pulmonary endothelial cell apoptosis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2024, 219: 141–152.
- [35] LABROUSSE-ARIAS D, MARTÍNEZ-RUIZ A, CALZADA M J. Hypoxia and redox signaling on extracellular matrix remodeling: from mechanisms to pathological implications [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2017, 27(12): 802–822.
- [36] JALOULI M. Emerging role of hypoxia-inducible factors (HIFs) in modulating autophagy: perspectives on cancer therapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(4): 1752.
- [37] RAGGI F, PELASSA S, PIEROBON D, et al. Regulation of human macrophage M1-M2 polarization balance by hypoxia and the triggering receptor expressed on myeloid cells-1 [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1097.
- [38] PALAZON A, TYRAKIS P A, MACIAS D, et al. An HIF-1 α /VEGF-A axis in cytotoxic T cells regulates tumor progression [J]. *Cancer Cell*, 2017, 32(5): 669–683.
- [39] SCHARPING N E, RIVADENEIRA D B, MENK A V, et al. Mitochondrial stress induced by continuous stimulation under hypoxia rapidly drives T cell exhaustion [J]. *Nat Immunol*, 2021, 22(2): 205–215.
- [40] MA R, CUI Y, YU S J, et al. The glucose metabolism reprogramming of yak Sertoli cells under hypoxia is regulated by autophagy [J]. *BMC Genomics*, 2025, 26(1): 385.
- [41] ZHU Y, LI Y, LI X, et al. Targeting hypoxia and autophagy inhibition *via* delivering sonodynamic nanoparticles with HIF-2 α inhibitor for enhancing immunotherapy in renal cell carcinoma [J]. *Adv Healthc Mater*, 2024, 13(32): 2402973.
- [42] GUO X, FAN X, XIE C, et al. Suppressing IGF2R mitigates hypoxia-induced apoptosis by reducing the expression of pro-apoptotic factor BAX [J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 284(Pt 1): 137785.
- [43] YU Y W, CHEN X, YAN J Y, et al. Phlorizin, a novel caloric restriction mimetic, stimulates hypoxia and protects cardiomyocytes through activating autophagy *via* modulating the Hif-1 α /Bnip3 axis in sepsis-induced myocardial dysfunction [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 126: 111241.
- [44] HU G, YUAN Z, WANG J. Autophagy inhibition and ferroptosis activation during atherosclerosis: Hypoxia-inducible factor 1 α inhibitor PX-478 alleviates atherosclerosis by inducing autophagy and suppressing ferroptosis in macrophages [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 161: 114333.
- [45] ZHANG W, TIAN W, XIA X, et al. AKR1C3 protects cardiomyocytes against hypoxia-induced cell apoptosis through the Nrf-2/NF- κ B pathway [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2025, 57(7): 1151–1163.
- [46] LI S, ZHAO J, XI Y, et al. Dl-3-n-butylphthalide exerts neuroprotective effects by modulating hypoxia-inducible factor 1-alpha ubiquitination to attenuate oxidative stress-induced apoptosis [J]. *Neural Regen Res*, 2023, 18(11): 2424–2428.
- [47] ZHANG W, XIA C L, QU Y D, et al. microRNA-18a regulates the Pyroptosis, Apoptosis, and Necroptosis (PANoptosis) of osteoblasts induced by tumor necrosis

- factor- α *via* hypoxia-inducible factor-1 α [J]. Int Immunopharmacol, 2024, 128: 111453.
- [48] CHEN Y, SHAN S, XUE Q, et al. Sirtuin1 mitigates hypoxia-induced cardiomyocyte apoptosis in myocardial infarction *via* PHD3/HIF-1 α [J]. Mol Med, 2025, 31(1): 100.
- [49] HARADA M, KOTANI H, IIDA Y, et al. Hypoxia-related carbonic anhydrase 9 induces serpinB9 expression in cancer cells and apoptosis in T cells *via* acidosis [J]. Cancer Sci, 2024, 115(5): 1405–1416.
- [50] MEYBODI S M, EJLALIDIZ M, MANSHADI M R, et al. Crosstalk between hypoxia-induced pyroptosis and immune escape in cancer: From mechanisms to therapy [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2024, 197: 104340.
- [51] ZHANG Q, YAOITA N, TABUCHI A, et al. Endothelial heterogeneity in the response to autophagy drives small vessel muscularization in pulmonary hypertension [J]. Circulation, 2024, 150(6): 466–487.
- [52] BONNET S, ARCHER S L. Potassium channel diversity in the pulmonary arteries and pulmonary veins: implications for regulation of the pulmonary vasculature in health and during pulmonary hypertension [J]. Pharmacol Ther, 2007, 115(1): 56–69.
- [53] ZHAN Y, LI L, GUO C, et al. microRNA-141-3p reduces pulmonary hypoxia/reoxygenation injury through suppression of Beclin-1-dependent autophagy [J]. Aging, 2024, 16(2): 1352–1373.
- [54] JIANG Y, LIU H, SHI R, et al. Methyltransferase-like 3-mediated N6-methyladenosine RNA methylation regulates hypoxia-induced pulmonary arterial smooth muscle cell pyroptosis by targeting PTEN [J]. J Am Heart Assoc, 2024, 13(19): e034470.
- [55] HU X, WANG S, ZHAO H, et al. CircPMS1 promotes proliferation of pulmonary artery smooth muscle cells, pulmonary microvascular endothelial cells, and pericytes under hypoxia [J]. Animal Model Exp Med, 2024, 7(3): 310–323.
- [56] UMBRELLO M, DYSON A, FEELISCH M, et al. The key role of nitric oxide in hypoxia: hypoxic vasodilation and energy supply-demand matching [J]. Antioxid Redox Signal, 2013, 19(14): 1690–1710.
- [57] MARCHINI ARMENTANO G, PIERETTI J C, FALCONI C A, et al. Nitric oxide plays a dual role in cardiorenal syndrome *in vitro* model [J]. Cell Physiol Biochem, 2024, 58(1): 33–48.
- [58] CHEN X Y, WANG J Q, CHENG S J, et al. Diazoxide post-conditioning activates the HIF-1/HRE pathway to induce myocardial protection in hypoxic/reoxygenated cardiomyocytes [J]. Front Cardiovasc Med, 2021, 8: 711465.
- [59] JIANG M, FAN X, WANG Y, et al. Effects of hypoxia in cardiac metabolic remodeling and heart failure [J]. Exp Cell Res, 2023, 432(1): 113763.
- [60] ZHAO Y, XIONG W, LI C, et al. Hypoxia-induced signaling in the cardiovascular system: pathogenesis and therapeutic targets [J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8(1): 431.
- [61] LUCERO GARCÍA ROJAS E Y, VILLANUEVA C, BOND R A. Hypoxia inducible factors as central players in the pathogenesis and pathophysiology of cardiovascular diseases [J]. Front Cardiovasc Med, 2021, 8: 709509.
- [62] 王海燕, 赵明辉, 张宏, 等. 肾脏病学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2020.
- WANG H Y, ZHAO M H, ZHANG H, et al. Nephrology [M]. Beijing: The People's Health Press Co., Ltd, 2020.
- [63] RAHBAR SAADAT Y, HOSSEINIYAN KHATIBI S M, SANI A, et al. Ischemic tubular injury: Oxygen-sensitive signals and metabolic reprogramming [J]. Inflammopharmacology, 2023, 31(4): 1657–1669.
- [64] WANG X, KIM C S, ADAMS B C, et al. Human proximal tubular epithelial cell-derived small extracellular vesicles mediate synchronized tubular ferroptosis in hypoxic kidney injury [J]. Redox Biol, 2024, 70: 103042.
- [65] MA H, GUO X, CUI S, et al. Dephosphorylation of AMP-activated protein kinase exacerbates ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury *via* mitochondrial dysfunction [J]. Kidney Int, 2022, 101(2): 315–330.
- [66] NANGAKU M, FUJITA T. Activation of the renin-angiotensin system and chronic hypoxia of the kidney [J]. Hypertens Res, 2008, 31(2): 175–184.
- [67] KIOUS K W, SAVAGE K A, TWOHEY S C E, et al. Chronic intermittent hypoxia promotes glomerular hyperfiltration and potentiates hypoxia-evoked decreases in renal perfusion and PO₂ [J]. Front Physiol, 2023, 14: 1235289.
- [68] ZHANG B H, LIU H, YUAN Y, et al. Knockdown of TRIM8 protects HK-2 cells against hypoxia/reoxygenation-induced injury by inhibiting oxidative stress-mediated apoptosis and pyroptosis *via* PI3K/Akt signal pathway [J]. Drug Des Devel Ther, 2021, 15: 4973–4983.
- [69] BAI X, LU H, MA R, et al. Mechanism of mitophagy to protect yak kidney from hypoxia-induced fibrosis damage by regulating ferroptosis pathway [J]. Biomolecules, 2025, 15(4): 556.
- [70] ZHIGUO L, XIANZHAO Y, XIAOKE L, et al. Association of hypoxic microenvironment with the development and progression of liver diseases [J]. Journal of Clinical Hepatology, 2020, 36(8): 1891.

- [71] GAO R Y, WANG M, LIU Q, et al. Hypoxia-inducible factor-2 α reprograms liver macrophages to protect against acute liver injury through the production of interleukin-6 [J]. *Hepatology*, 2020, 71(6): 2105–2117.
- [72] SAVRANSKY V, NANAYAKKARA A, VIVERO A, et al. Chronic intermittent hypoxia predisposes to liver injury [J]. *Hepatology*, 2007, 45(4): 1007–1013.
- [73] LEFORT K R, RUNGRATANAWANICH W, SONG B J. Contributing roles of mitochondrial dysfunction and hepatocyte apoptosis in liver diseases through oxidative stress, post-translational modifications, inflammation, and intestinal barrier dysfunction [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2024, 81(1): 34.
- [74] KUWANO A, TANAKA M, SUZUKI H, et al. Upregulated expression of hypoxia reactive genes in peripheral blood mononuclear cells from chronic liver disease patients [J]. *Biochem Biophys Rep*, 2021, 27: 101068.
- [75] BOCCA C, NOVO E, MIGLIETTA A, et al. Angiogenesis and fibrogenesis in chronic liver diseases [J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2015, 1(5): 477–488.
- [76] NING L, ZOU Y, LI S, et al. Anti-PCSK9 treatment attenuates liver fibrosis *via* inhibiting hypoxia-induced autophagy in hepatocytes [J]. *Inflammation*, 2023, 46(6): 2102–2119.
- [77] LI Y, CHEN Y, XIAO X, et al. CX3CL1 represses autophagy *via* CX3CR1/CaMKII δ /HDAC4/Rubicon axis and exacerbates chronic intermittent hypoxia induced Kupffer cell apoptosis [J]. *Cell Signal*, 2023, 111: 110873.
- [78] ROCHA H L, CODET I, KURTOGLU F, et al. A persistent invasive phenotype in post-hypoxic tumor cells is revealed by fate mapping and computational modeling [J]. *iScience*, 2021, 24(9): 102935.
- [79] LIBERTI M V, LOCASALE J W. The Warburg effect: how does it benefit cancer cells? [J]. *Trends Biochem Sci*, 2016, 41(3): 211–218.
- [80] CHOUAIB S, MESSAI Y, COUVE S, et al. Hypoxia promotes tumor growth in linking angiogenesis to immune escape [J]. *Front Immunol*, 2012, 3: 21.
- [81] APTE R S, CHEN D S, FERRARA N. VEGF in signaling and disease: beyond discovery and development [J]. *Cell*, 2019, 176(6): 1248–1264.
- [82] 刘志娟, 魏尔清, 卢韵碧. 上皮-间质转化在肿瘤发生发展中的作用研究进展 [J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2015, 44(2): 211–216.
- LIU Z X, WEI E Q, LU Y B. Research progress on epithelial-mesenchymal transition in cancer recurrence and metastasis [J]. *J Zhejiang Univ Med Sci*, 2015, 44(2): 211–216.
- [83] AIELLO N M, KANG Y. Context-dependent EMT programs in cancer metastasis [J]. *J Exp Med*, 2019, 216(5): 1016–1026.
- [84] YU G, KLIONSKY D J. A “short-cut” response of autophagy to oxidative stress: oxygen-dependent activity of a lysine demethylase guides the activity of ULK1 during hypoxia [J]. *Autophagy*, 2022, 18(8): 1749–1751.

[收稿日期]2025-07-21